Apotransferrin による多核白血球の殺菌増強効果に関する研究

辻 芳郎・林 克敏・楊井正紀・神戸正彦・柳 忠道*

Enhancement of bactericidal activity in polymorphonuclear leukocytes by apotransferrin

Yoshiro Tsuji・Katsutoshi Hayashi・Masanori Yanai・Masahiko Kanbe・Tadamichi Yanagi*

トランスフェリンは、鉄と結合して鉄を運ぶ役割をもっている。それに加えて、鉄と結合していないアポトランスフェリンは、アポラクトフェリンとともに静菌作用のあることも知られている。ほとんどの細菌はその成長、増菌に鉄を必要としている。過鉄血症では、病原細菌の成長に好条件となっているために易感染がみられる^{1,2)}。鉄は血清中でトランスフェリンと結合していて、細菌の生存に必要な鉄を細菌に与えない。血清中で、約 2/3 のトランスフェリンは鉄と結合してなく、細菌がもっているジデロホーレと競合して、鉄を奪うために静菌的に働いている。すなわち、栄養性免疫の役割をしている³⁾。

私たちは、鉄と結合していないアポトランスフェリンが、少量の血清の存在下に好中球の殺菌能を増強させる作用があることを新しく見いだしたので報告する。

方 法

好中球および新鮮血清は健康成人より得た。アポトランスフェリンと 100% 鉄飽和トランスフェリンは、ミドリ十字より提供を受けた。ジデロホーレとしてデスフェラルを使用した。好中球細菌殺菌能検査は Quie の方法⁴⁾で行った。すなわち、 $2.5 \times 10^6/0.5 \text{ ml}$ 好中球 + $10^7/0.1 \text{ ml}$ 大腸菌またはブドウ球菌 + 1/20 希釈新鮮血清 0.4 ml の混合液にアポトランスフェリンを加えた。

通常は 1/5 希釈血清を使用するが、この実験ではオプソニン量を少なくして、できる限り殺菌率を低下させた実験系を検討した結果、1/20 希釈（最終血清濃度 2%）とした。その他、アガロース法による走化能検査、化学発光検査を辻らの方法^{5,6)}で行った。

結 果

1/5 希釈血清での 90 分反応後の殺菌率は、大腸菌 96.3

$\pm 1.9\%$ 、ブドウ球菌 $87.1 \pm 4.9\%$ であった。1/20 希釈血清では大腸菌 $8.1 \pm 21.5\%$ 、ブドウ球菌 $58.3 \pm 16.1\%$ と低下していた。この 1/20 希釈血清にアポトランスフェリンを 1.9 mg 加えると、大腸菌 $52.2 \pm 25.8\%$ 、ブドウ球菌 $84.7 \pm 8.9\%$ と殺菌率は高まり、19 mg に増量すると大腸菌 $91.8 \pm 4.0\%$ 、ブドウ球菌 $94.7 \pm 3.6\%$ と殺菌率は非常に増強される結果を得た（図 1, 2）。

新鮮血清を熱によって不活化させて使用した場合は、アポトランスフェリンを加えても殺菌率の増強はみられなかった。細菌をあらかじめアポトランスフェリンと incubate し、生理的食塩水で洗浄した後殺菌能検査を行うと、殺菌率は高くなったが、好中球と pre-incubate 後洗浄して行くと、殺菌増強はみられなかった。100% 鉄飽和トランスフェリン（図 3）やデスフェラルには殺菌増強効果はまったくみられなかった。細菌とアポトランスフェリンのみの系では、殺菌はまったくみられなかった。

新鮮血清の代わりにアポトランスフェリンを入れて、オプソニン効果をみたが、殺菌はまったくみられなかった。アガロース・プレート法による走化因子検査で、走化因子としての作用はまったくみられなかった。また好中球の酸素代謝を検査する化学発光試験では、発光の増強はみられなかった。

考 案

トランスフェリンの第一の機能は、鉄を必要とする細胞に血清鉄として鉄を担送することである。血清中では、1/3 は鉄と結合した血清鉄の型で、2/3 は鉄と結合していないアポトランスフェリンとして存在する。

第二の機能としては、鉄を必要とする細菌に対して静菌的に働くことが知られている。

私たちの研究で、好中球に対するアポトランスフェリンの新しい効果がわかった。まず影響のない作用として、殺菌作用、オプソニン作用、走化因子としての作用、酸化代謝促進作用などは認められない。影響のある作用としては殺菌増強効果である。それも、鉄と結合していないアポトランスフェリンでなければならない。

しかし、同じような機能をもつ鉄を結合するジデロホーレには、このような殺菌増強作用は認められない。細

* Department of Pediatrics, Nagasaki University, School of Medicine 長崎大学医学部小児科学教室

図 1 bactericidal activity

図 2 bactericidal activity

菌と pre-incubate すると効果があるが、好中球と pre-incubate しても効果はみられないこと、少量の新鮮血清存在下に好中球の殺菌能はいちじるしく増強され、熱により不活化した血清では殺菌能の増強がみられないことより、血清中の補体と共同してなんらかの相乗作用が出現し、しかも細菌のほうに働くものと推測される。

貪食率を顕微鏡下で算定しても、アポトランスフェリンにより若干の上昇はみられるが、いちじるしい殺菌率増強の説明には十分ではない。より深い研究が必要である。しかし、私たちの研究の成績より、細菌感染症の治療に使用できる可能性がある。

文 献

- 1) Weinberg, E.D.: Science 184: 952, 1974.
- 2) Weinberg, E.D.: Microbiol. Rev. 42(1): 45, 1978.
- 3) Kochan, I.: Curr. Top. Microbiol. Immunol. 60: 1, 1973.
- 4) Quie, P.G., et al.: J. Clin. Invest. 46: 668, 1967.
- 5) 辻 芳郎・他: 医学のあゆみ 98(11): 722, 1976.
- 6) 辻 芳郎・他: 医学のあゆみ 102(3): 161, 1977.

図 3 bactericidal activity